

И. Я. Руденко, Ю. Л. Скородок, В. Б. Климович

СРАВНЕНИЕ ДВУХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ К АНТИГЕНАМ ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Лаборатория гибридной технологии (зав. — канд. мед. наук В. Б. Климович) Центрального научно-исследовательского рентгенорадиологического института (дир. — проф. А. М. Гранов) Минздравмедпрома РФ, Санкт-Петербург

В сыворотках крови людей с нарушениями функции щитовидной железы часто обнаруживаются аутоантитела к органоспецифическим антигенам: тиреоглобулину (ТГ) и микросомальной фракции тиреоцитов (МСТ) [7]. Повышенный уровень аутоантител к ТГ встречается у 60-90% больных аутоиммунным тиреоидитом (АИТ), а к МСТ — у 80% больных базедовой болезнью и почти у 100% больных тиреоидитом Хашимото [6]. Присутствие аутоантител служит диагностическим признаком аутоиммунных заболеваний щитовидной железы, по своей природе они являются главным образом иммуноглобулинами класса G [8].

В настоящее время в практике отечественного здравоохранения для определения аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы наиболее часто применяется реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) по Бойдену [3], в то время как более объективным и технологичным является метод иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием моноклональных антител (МКА), обеспечивающий высокую чувствительность и специфичность исследований [4].

Целью настоящего исследования было установление наличия или отсутствия корреляции между результатами, полученными при определении аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы методом ИФА и РПГА.

Материалы и методы

Обследованы 62 пациентки в возрасте от 9 до 15 лет, проживающие в С.-Петербурге. Все обследованные были разделены на 2 группы: 1-я — 39 девочек-подростков с диффузным увеличением щитовидной железы, 2-я — 23 пациентки с АИТ, диагностика которого проводилась на основании клинических (плотная или неравномерно плотная консистенция щитовидной железы), иммунологических (определение титров аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы) и ультразвукографических (типичная ультразвуковая картина АИТ) данных.

Уровень аутоантител к общему экстракту щитовидной железы определяли с помощью РПГА по общепринятой методике [3] в лаборатории эндокринного отделения городской детской больницы № 19. Аутоантитела к ТГ и МСТ определяли в лаборатории гибридной технологии ЦНИРРИ Минздравмедпрома РФ методом непрямого твердофазного ИФА [2]. МСТ была выделена в лаборатории из гомогената щитовидной железы человека, а твердофазный ИФА проводили в плоскодонных полистирольных планшетах ("Медполимер", С.-Петербург). На поверхность ячеек планшетов наносили раствор антигенов (ТГ или МСТ) в 0,1 М натрий-карбонат-бикарбонатном буфере (рН 9,5) в концентрации 5 мкг/мл и инкубировали в течение 18 ч при 4°C. Инкубация исследуемых сывороток с адсорбированным на твердой фазе антигеном продолжалась 1,5 ч при 37°C. В качестве выявляющих агентов использовали меченные пероксидазой из корней хрена МКА к иммуноглобулинам человека, полученные в лаборатории гибридной технологии ЦНИРРИ [5]. ТГ был предоставлен НПО "Аллерген" (Ставрополь).

После каждой инкубации проводилось трехкратное отмывание от компонентов, не связавшихся с твердой фазой. Для отмывки и разведения реагентов использовали 0,01 М фос-

фатно-солевой буфер (рН 7,4), содержащий 0,15 М хлорида натрия и 0,05% твина-20. Наличие пероксидазной активности определяли по окрашиванию субстрат-хромогенной смеси, содержащей 1 мг ортофенилендиамина в 1 мл 0,1 М натрий-цитратного буфера (рН 4,5) и 0,8 мкл 33% перекиси водорода. Оптическую плотность проб регистрировали при длине волны 450 нм на фотометре Multiscan-МС. За нормальный принимали уровень аутоантител к ТГ и МСТ в нулевой сыворотке от 300 штатных доноров НИИ гематологии и переливания крови Минздравмедпрома РФ (С.-Петербург).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась общепринятыми методами [1]. Для определения ошибок выборочных долей, сравнения средних величин и выборочных долей использовали *t*-критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования представлены в таблице.

При анализе результатов обращает на себя внимание относительное увеличение уровня аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы при использовании ИФА. По мнению авторов, это связано с более высокой чувствительностью данного метода по сравнению с РПГА. Этот факт объясняется тем, что при использовании ИФА с антигеном (ТГ или МСТ) взаимодействуют и образуют иммунокомплекс два вида антител — аутоантитела из сыворотки крови человека и МКА к иммуноглобулинам человека, тогда как в случае использования РПГА сами аутоантитела являются агглютинирующим фактором.

Данные таблицы показывают, что в группе девочек-подростков с диффузным увеличением щитовидной железы средний уровень аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы не отличается достоверно от нормы при определении как методом ИФА, так и РПГА.

Результаты определения уровня аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы методом ИФА и РПГА

Группа пациенток	Титр аутоантител к ТГ (ИФА)	Титр аутоантител к общему экстракту из щитовидной железы (РПГА)	Титр аутоантител к МСТ ИФА
Норма	1:270 ± 0,0	1:40 ± 0,0	1:895 ± 0,0
1-я	(39) 1:180 ± 35,9	(39) 1:12 ± 3,0	(13) 1:545 ± 137,8
<i>p</i>	>0,05	>0,05	>0,05
<i>p</i> ₁	<0,001	<0,05	<0,001
2-я	(23) 1:7141 ± 1939,7	(23) 1:762 ± 364,1	(15) 1:14081 ± 4143,2
<i>p</i>	<0,001	>0,05	<0,01

Примечание. Представлен средний уровень аутоантител (*x*). В скобках — число исследований, *p* — сравнение с нормой, *p*₁ — со 2-й группой.

В группе пациенток с диагнозом АИТ средний уровень аутоантител, определяемый методом ИФА, достоверно выше нормы (для аутоантител к ТГ — $p < 0,001$, для аутоантител к МСТ — $p < 0,01$). Средний уровень аутоантител, определяемый при помощи РПГА, в этой группе не отличается от нормы.

При сравнении средних величин уровня антител к антигенам ткани щитовидной железы в 1-й и 2-й группах установлено, что их значения достоверно выше в группе пациенток с диагнозом АИТ в сравнении с группой девочек-подростков с диффузным увеличением щитовидной железы при определении как методом ИФА (для аутоантител к ТГ — $p < 0,001$; для аутоантител к МСТ — $p < 0,05$), так и при помощи РПГА ($p < 0,01$).

Выявляемость повышенного уровня аутоантител в группе пациенток с диагнозом АИТ методом ИФА составляет $100 \pm 0,0\%$, тогда как при помощи РПГА — $35 \pm 9,9\%$. В $87 \pm 6,0\%$ случаев имеется соответствие определения уровня аутоантител к ТГ и МСТ, т.е. повышенному уровню аутоантител к ТГ соответствует повышенный уровень аутоантител к МСТ, а нормальному — нормальный.

Выводы

1. Выявляемость повышенного уровня аутоантител к антигенам ткани щитовидной железы достоверно ($p < 0,01$) выше при использовании ИФА.

2. Средние значения уровня аутоантител к ТГ и МСТ, определенные методом ИФА, достоверно ($p < 0,001$ и $p < 0,01$ для ТГ и МСТ соответственно) выше нормы в группе пациенток с ди-

агнозом АИТ, а в группе девочек-подростков с диффузным увеличением щитовидной железы они не отличаются от нормального.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. — М., 1980.
2. Твердофазный иммуноферментный анализ (Труды Ин-та им. Пастера. Т. 64). — М., 1988. — С. 3-13.
3. *Fulthorp A. J., Roitt I. M., Doniach D., Couchman K.* // *J. clin. Path.* — 1961. — Vol. 14. — P. 654.
4. *Kohler G., Milstein C.* // *Nature.* — 1980. — Vol. 256. — P. 495-497.
5. *Krutetskaya I., Samoilovich M., Gruazeva I.* et al. // *International Conference of Medical Biotechnology, Immunization and AIDS.* — Leningrad, 1991. — P. 33.
6. *Mariotti S., Ruf I., Caturegli P.* et al. // *Ann. Biol. clin.* — 1989. — Vol. 47, N 9. — P. 543-545.
7. *Pinchera A., Mariotti S., Vitti P.* et al. // *Biochimie.* — 1989. — Vol. 71, N 2. — P. 237-245.
8. *Torrigiani G., Roitt I. M.* // *Clin. exp. Immunol.* — 1968. — Vol. 3. — P. 621.

Поступила 28.12.94

I. Ya. Rudenko, Yu. L. Skorodok, V. B. Klimovich — COMPARISON OF TWO METHODS FOR THE ASSESSMENT OF THE LEVELS OF AUTOANTIBODIES TO THYROID TISSUE ANTIGENS

Summary. The levels of autoantibodies to total extract of the thyroid were assessed using passive hemagglutination test and of antibodies to thyroglobulin (TG) and thyrocyte microsomal fraction (TMF) by indirect solid-phase enzyme immunoassay in 62 adolescent girls with diffuse enlargement of the thyroid and autoimmune thyroiditis. The efficacies of the two methods were compared. Autoantibodies to thyroid tissue antigens were reliably better detected by enzyme immunoassay. The mean levels of autoantibodies to TG and TMF measured by enzyme immunoassay were reliably increased in patients with autoimmune thyroiditis, whereas in the group of adolescent girls with diffuse enlargement of the thyroid they did not differ from the norm.

◆ ЗАМЕТКИ ИЗ ПРАКТИКИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ. 1995

УДК 616.447-008.61-035.7

А. В. Толкачев, Н. В. Коляскина, Т. А. Зыкова

О ТРУДНОСТЯХ ДИАГНОСТИКИ ГИПЕРПАРАТИРЕОИДНОГО КРИЗА

Новодвинская центральная городская больница (главный врач Н. С. Долинни); кафедра факультетской терапии (зав. — проф. Т. Н. Иванова) Архангельской государственной медицинской академии

Гиперпаратиреоидный (гиперкальциемический) криз развивается при аденомах околощитовидных желез или их гиперплазии, злокачественных неэндокринных опухолях, которые секретируют паратгормон.

Уровень кальция, при котором развивается криз, может быть различным. Клиническая картина криза обусловлена интоксикацией кальцием и связанными с ней другими симптомами и электролитными нарушениями. Она очень вариативна и в связи с этим имеются диагностические трудности. В диагностике гиперпаратиреоидного криза имеют значение следующие признаки: заторможенность, возбуждение или другие психические расстройства, боли в области эпигастрия, анорексия, жажда, тошнота, рвота, потеря массы, метеоризм, лихорадка, тахикардия, артериальная гипертензия, полидипсия и полиурия. При прогрессировании криза развиваются анурия, кардиоваскулярный шок, психоз и коматозное состояние. Дифференциальный диагноз в этой ситуации приходится проводить с комами другой этиологии, имеющими сходные симптомы, с заболеваниями сердечно-сосудистой

системы, органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, с патологией почек и состояниями, обусловленными заболеваниями нервно-психической сферы [1, 2].

Представляем наше наблюдение.

Большая П., 62 лет, поступила в терапевтическое отделение больницы Новодвинска 9 августа 1993 г. в 17 ч 40 мин с диагнозом острой сердечно-сосудистой недостаточности неясного генеза.

При поступлении жалобы на резкую слабость, отсутствие аппетита, сухость во рту. Больной себя считает в течение 4 дней, отмечала кратковременные боли за грудиной, затрудненное дыхание, тошноту, многократную рвоту с примесью желчи. Через 2 дня рвота прекратилась, оставалось поташнивание, продолжала нарастать слабость. Направлена в стационар участковым терапевтом.

Данные анамнеза: жительница одного из районов Архангельской обл. (в Новодвинске была в гостях у дочери). Перенесла вирусный гепатит В, страдала гипертонической болезнью и хроническим астматическим бронхитом с 1989 г. В